Aus der Medizinischen Universitätsklinik der Krankenanstalten
„Bergmannsheil" Bochum
(ehemaliger Chefarzt Prof. Dr. E. Fritze)

DER ZELLGEHALT DES HARNES ALS PATHOGNOSTISCHES KRITERIUM

Untersuchung eines einfachen methodischen Weges zur Herstellung einer quantitativen Beziehung zwischen Partikelgehalt des Harnes und seiner bakteriellen Besiedlung

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität zu Bochum

vorgelegt von
KLAUS-WERNER MÜLLER
aus Bochum

1980

1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik der
Krankenanstalten "Bergmannsheil" Bochum
(ehemaliger Chefarzt Prof. Dr. E. Fritze)

Der Zellgehalt des Harnes als pathognostisches Kriterium

Untersuchung eines einfachen methodischen Weges zur Herstellung einer quantitativen Beziehung zwischen Partikelgehalt des Harnes und seiner bakteriellen Besiedlung

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruhr-Universität zu Bochum

vorgelegt von
Klaus-Werner Müller
aus Bochum
1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr. K. Morgenroth
Referent:	Prof. Dr. E. Fritze
Korreferent:	Prof. Dr. W. König

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juni 1981

Widmung

Meiner geliebten Mutter und meinem viel zu früh verstorbenen Vater in tiefer Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544708_0012

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A Einleitung	1
B Methodik	4
I. Untersuchungsgut	4
II. Untersuchungsgang	4
1.a) Bakteriologische Untersuchung zur Keimzahlbestimmung	4
1.b) Bakteriologische Untersuchung zur Isolierung und Identifizierung von Mikroorganismen	5
2.a) Bestimmung der im Harn enthaltenen Teilchenzahl mit Hilfe der Zählkammer nach Türk	6
2.b) Bestimmung der im Harn enthaltenen Teilchenzahl mit dem Coulter Counter^{R}	8
2.c) Bestimmung der relativen Häufigkeit der verschiedenen Teilchen	15
2.d) Bestimmung des pH-Wertes	17
2.e) Der Untersuchungsablauf	17
C Ergebnisse	19
I. Die Beziehung zwischen Keim- und Teilchenzahl	19
II. Abhängigkeit der Teilchenzahl in einer Harnprobe von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung bei Zimmertemperatur	23
III. Abhängigkeit der Teilchenzahl von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes	26
IV. Die Erreger in den Harnwegen	28

Seite

D Diskussion 29

I. Diskussion zur Methodik 29

1. Zur Verwendung von Mittelstrahlurin 29

2. Die bakteriologische Untersuchung 29

3. Zu den Fehlern der Zählverfahren 30

II. Diskussion der Ergebnisse 31

1. Zur Beziehung zwischen Keim- und Teilchenzahl 31

2. Zur Abhängigkeit der Teilchenzahl von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung einer Harnprobe bei Zimmertemperatur, auch unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes 40

E Zusammenfassung 42

F Literaturverzeichnis 44

E I N L E I T U N G

An der Spitze aller Harnweginfektionen und an zweiter Stelle aller infektbedingten Krankheiten im Erwachsenenalter steht die chronische Pyelonephritis, die bei 2 bis 20 % der Autopsien gefunden wird (13, 22). Zu Lebzeiten bleiben 70 bis 80 % dieser Erkrankungen unerkannt und werden deshalb auch nicht behandelt (23). Eine Reihe von prädisponierenden Faktoren wie primäre oder sekundäre Obstruktionen mit Harnstauung, Mißbildungen an Nieren und ableitenden Harnwegen, Nephrokalzinose und Nephrolithiasis, Prostataerkrankungen, Gravidität, Querschnittslähmung, längere Bettlägerigkeit, Diabetes mellitus, Gicht, Hypertonie, Phenazetin-Mißbrauch und Kortikosteroid-Langzeittherapie fördern die Entstehung einer Pyelonephritis oder begünstigen das Fortschreiten dieser Erkrankung. Ein großes, zum Teil nicht erkanntes Krankengut mit solchen prädisponierenden Faktoren und die Tatsache, daß die chronische Pyelonephritis als Ursache von Schrumpfnieren, Hypertonie und Urämie in den Vordergrund des Interesses gerückt ist, begründen die Forderung, auf breiter Basis nach Harnweginfektionen, insbesondere nach der chronischen Pyelonephritis, zu fahnden.

Zur Erkennung oder zum Ausschluß dieser Krankheiten braucht man neben der qualitativen bakteriologischen Diagnostik eine quantitative Bestimmung der Bakterienmenge und des Gehaltes an weißen Blutkörperchen im Urin.

Die Leukozytenzählung im Harn eventuell unter Einschluß der Zahl der Epithelien, Zylinder und Erythrozyten kann in jedem Laboratorium schnell und auf relativ einfache Weise mit einer Zählkammer durchgeführt werden.

Die quantitative Ermittlung der Keimbesiedlung im Harn hingegen gestaltet sich weitaus problematischer. Schon die Gewinnung durch Blasenpunktion, als Mittelstrahl- oder Katheterharn bedarf wegen der Kontaminationsgefahr einer besonderen Sorgfalt. Optimal wäre es, eine genau abgemessene Menge des noch körperwarmen Urins auf eine Nährplatte zu geben, zu verteilen und unmittelbar darauf mit der Bebrütung zu beginnen. Für den Routinebetrieb stehen aber nur zwei nicht so ideale Verfahren zur Verfügung:

1. Die Agarschichten eines Uricult^{R}-Röhrchens werden unmittelbar mit Urin befeuchtet. Zur 16 bis 24stündigen Bebrütung muß das Röhrchen in ein bakteriologisches Labor versandt werden. Durch den Transport sollen Zahl und Art der Keime nicht wesentlich beeinflußt werden. Es soll möglich sein, den Größenbereich der Keimzahl pro ml, also grob-quantitativ, mit ausreichender Genauigkeit anzugeben. (4)

2. Der Urin wird in ein bakteriologisches Labor geschickt. Während der Stunden bis Tage dauernden Beförderung kann sich die Erregerzahl in unkontrollierbarem Umfang verändern. Eventuell läßt sich dieses Transportproblem durch mit Trockeneis gekühlte Röhrchen lösen. Auch hier folgt dann eine ungefähr 24stündige Bebrütung. Die Aussagesicherheit dieses Vorgehens ist zweifelhaft.

   Durch eine krankenhauseigene Bakteriologie kann die Zeitspanne zwischen Gewinnung und Verarbeitung natürlich erheblich verkürzt werden, wodurch die Relevanz des Ergebnisses verbessert wird.

   Auch zeichnet sich dieses Verfahren durch geringere Kosten aus.

Es vergehen somit in der Regel wenigstens 24 Stunden, unter Umständen auch zwei bis drei Tage, bis das Untersuchungsergebnis vorliegt.

Die Keimzahlbestimmung als Methode zur Erkennung einer Harnweginfektion ist also mit zahlreichen Fehlerrisiken, Schwierigkeiten und Mängeln behaftet.

Auf der Suche nach einer unkomplizierten und sicheren, schnellen und preisgünstigen Alternative liegt es nahe, zur Zählung von Leukozyten, Epithelien, Zylindern und Erythrozyten zurückzukehren. Um aber auf die bakteriologische Keimzahlbestimmung verzichten zu können, müßte eine enge Beziehung bestehen zwischen der Zahl der Mikroorganismen und der Menge der als Ausdruck des entzündlichen Nierenprozesses im Harn vorhandenen zelligen Bestandteile. Voraussetzung wäre dazu, daß mit einer signifikanten Bakteriurie zu 99 % eine Leukozyturie einherginge (17) und im sterilen Harn bei einem ähnlich hohen Prozentsatz die Zahl der weißen Blutkörperchen oder aller zelligen Bestandteile deutlich unter den Werten bliebe, die einen pathologischen Harnbefund ausmachen.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, herauszufinden, ob zwischen der quantitativen Keimbesiedlung einer Urinprobe und der in dieser Probe befindlichen Zahl an zelligen Bestandteilen eine Beziehung besteht. Läge eine starke Korrelation vor, wäre es möglich, die bakteriologische Bestimmung der Bakterienzahl durch eine Zählung der zelligen Bestandteile vollwertig zu ersetzen. Würde eine nicht so deutliche Relation ermittelt, könnte die Zellzählung als Screening-Test zur Feststellung noch nicht diagnostizierter Harnweginfektionen dienen.

METHODIK

I. Untersuchungsgut

Untersuchungsgut ist der morgens zwischen 6.00 und 8.00 Uhr als Mittelstrahl- oder Katheterharn entleerte Nachturin. Er wird sowohl in einem sterilen Glasröhrchen für die bakteriologische Untersuchung als auch in einem sauberen, etwa 25 ml fassenden Plastikröhrchen für die Ermittlung der im Urin enthaltenen Partikel gesammelt.

Die Untersuchungen beginnen gegen 8.00 Uhr, spätestens aber zwei Stunden nach der Uringewinnung (3).

II. Untersuchungsgang

1.a) Bakteriologische Untersuchung zur Keimzahlbestimmung (21)

Mit Hilfe einer automatischen Pipette nach dem System Marburg (Fixvolumenpipette 4700 mit Abwurfautomatik der Firma Eppendorf Gerätebau Netheler und Hinz GmbH, Hamburg 63) werden 10 µl Urin auf die Mitte eines Eosin-Methylenblau-Agars (EMB) nach Levin der Firma Oxoid, Wesel, gebracht. Sofort darauf wird das Material mit einer Öse diagonal in Form eines Impfstriches über die Platte verteilt und dann senkrecht dazu in engen hin- und herführenden Impfstrichen mit derselben Öse über die Platte ausgestrichen. Auf diesem Nährboden wachsen fast alle für die Harnwege pathogenen Keime einschließlich der Hefen und sind bis zu einem gewissen Grad differenzierbar. Proteusbakterien werden am Schwärmen gehemmt und können auch quantitativ erfaßt werden.

Nach Bebrütung der so beimpften Kultur über Nacht bei 37° C wird am nächsten Tag die Keimzahl auf der EMB-Platte ermittelt, indem die gewachsenen Kolonien ohne Rücksicht auf die Keimart ausgezählt werden. Bis zu 10 Kolonien werden einzeln abgezählt. Es ist möglich abzuschätzen, ob die Kolonienzahl mehr als 100, aber weniger als 1000 oder mehr als 1000 Kolonien beträgt.

Zur berechnung der Keimzahl pro ml muß die Zahl der gefundenen Kolonien mit 100 multipliziert werden, da die aufgeimpfte Urinmenge nur 0,01 ml beträgt. Deshalb entsprechen

weniger als 1 Kolonie	weniger als	100 Keimen/ml,
1 - 10 Kolonien	weniger als	1.000 Keimen/ml,
10 - 100 Kolonien	weniger als	10.000 Keimen/ml,
100 - 1000 Kolonien	weniger als	100.000 Keimen/ml
und mehr als 1000 Kolonien	mehr als	100.000 Keimen/ml.

1.b) Bakteriologische Untersuchung zur Isolierung und Identifizierung von Mikroorganismen

Um zu erfahren, welche Erreger an der Harnweginfektion beteiligt sind, werden die Bakterienarten ermittelt. Da aber im Rahmen dieser Arbeit die Kenntnis der einzelnen Keimarten von untergeordneter Bedeutung ist, werden dazu nur wenige Bemerkungen gemacht.

Die am Beginn jeder Keimartbestimmung stehende mikroskopische Untersuchung der Methylenblaufärbung des Harnausstriches gibt eine Übersicht über die zelligen Bestandteile und die Erregerexistenz im frischen Urin.

Zur Erzielung makroskopisch sichtbarer Bakterienkolonien werden feste Nährmedien verwendet. Dabei nimmt man zur Unterscheidung morphologisch ähnlicher, pathogener und

apathogener Keime Selektivmedien zur Hilfe, die das Wachstum verschiedener Mikroorganismen begünstigen oder unterdrücken können.

Nötigenfalls werden zur Typisierung der nun in Reinkultur vorliegenden Erreger eine Methylenblau- und eine Gramfärbung angefertigt, um auch die Bakterienform und das Gramverhalten zu beurteilen.

Reichen das mikroskopische Bild und das Kolonienwachstum nicht für eine praktische Diagnose aus, werden in der Regel noch biochemische Prüfungen vorgenommen, wobei der Nachweis von fermentativen Abbauleistungen im Vordergrund steht.

Unter Umständen kommen noch weitere, für die einzelnen Keimarten spezielle Untersuchungsverfahren zur Anwendung.

2.a) Bestimmung der im Harn enthaltenen Teilchenzahl mit Hilfe der Zählkammer nach Türk

Definition: Leukozyten, Epithelien, Zylinder, Erythrozyten und Kristalle werden zusammen als "Teilchen", "Elemente" oder "Partikel" bezeichnet.

Kurze Zeit nach Erhalt jeder Urinprobe und gegebenenfalls noch einmal sechs Stunden später wird ein Teil des in den Plastikröhrchen enthaltenen Harns zur Zählung der in ihm enthaltenen Teilchen benutzt.

Die amtlich geeichte Türk-Kammer besitzt zwei identische Netzeinteilungen, von denen jede folgendermaßen aussieht:

An die Spitzen des zentralen Quadrates mit einer Fläche von 1 mm^2 stoßen vier weitere, gleich große Quadrate an, die so unterteilt sind, daß in jedem einzelnen Quadrat 16 Felder mit einer Fläche von je 0,2 mm x 0,2 mm entstehen, die voneinander durch schmale, bei der Auszählung unberücksichtigte Streifen getrennt sind. Zur Partikelzählung werden diese 16 Felder mit einer Gesamtfläche von 16 x 0,2 x 0,2 mm^2 = 0,64 mm^2 herangezogen. Da eine unregelmäßige Verteilung der Teilchen in der ganzen Zählkammer nicht auszuschließen ist, werden die Partikel außerdem noch in den 16 Quadraten ausgezählt, die den ersten 16 Feldern über das zentrale Quadrat hinweg genau gegenüberliegen. Weil die Kammer durch eine Querrinne halbiert ist, werden die Elemente zusätzlich in 16 Feldern der bis dahin außer acht gelassenen Hälfte gezählt. Aus diesen drei Werten wird das arithmetische Mittel für die durchschnittlich in 16 Feldern vorhandene Zahl an Partikeln errechnet. Es erscheint nicht sinnvoll, dreimal die Fläche von exakt 1 mm^2 zu berücksichtigen, da durch die vielen Grenzlinien ein so großes Quadrat recht unübersichtlich wird und mit dem Mikroskop (Zeiss Mikroskop Junior Standard) bei einer Vergrößerung von 8 x 40 genau eines dieser 16 kleineren Felder vollständig überschaut werden kann. Bei hohen Teilchenzahlen ist dazu der korrekte Überblick über einen gesamten Quadratmillimeter nahezu unmöglich. Durch ein fest auf die Kammerseiten angepreßtes Deckglas, sichtbar durch das Auftreten von Newtonschen Farbenringen, entsteht über den Netzeinteilungen ein Raum von 0,1 mm Höhe. Es empfiehlt sich nicht, eine Kammer mit einer Höhe von 0,2 mm, zum Beispiel die Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal, zu wählen, da es hierbei sehr leicht möglich ist, daß sich mehrere Partikel übereinanderlegen und sie dann nicht mehr sicher gezählt werden können.

Um den Harn in die Kammer, wo die Elemente vor der Zählung erst etwa 1 bis 2 Minuten sedimentieren müssen, einzufüllen, wird eine Leukozytenpipette der Firma Assistent benutzt. Damit die Teilchen einen besseren Kontrast im durchfallenden Licht der im Mikroskop eingebauten Glühbirne geben, wird zuerst bis zur Marke 0,5 Hayemsche Lösung aufgezogen, dann bis zur Marke 11 der Urin. Hieraus errechnet sich eine Verdünnung von 19 : 20 (1 : 1,053), da bis zur Marke 1 ja keine Vermischung stattfindet und die hier befindliche Harnmenge verworfen werden muß. Aus dem Zusatz an Hayemscher Lösung ergibt sich, daß in einem Kammervolumen von 16 x 0,2 x 0,2 x 0,1 µl = 0,064 µl nur 0,0608 µl unverdünnter Urin vorhanden sind. Die Elementezahl, die aus der Berücksichtigung von 16 Feldern à 0,04 mm^2 resultiert, muß also mit 16,45 multipliziert werden (0,0608 x 16,45 = 1), um die tatsächliche Teilchenzahl/µl zu erhalten.

Dieses Zählkammerverfahren wird mit der Partikelzählung in einem elektronischen Zählgerät verglichen, bei dem neben der Arbeitserleichterung die erreichbare Genauigkeit hervorzuheben ist. Läge eine starke Korrelation zwischen beiden Methoden vor, wäre es vorteilhaft, das Zählkammerverfahren durch die elektronische Zählung zu ersetzen.

2.b) Bestimmung der im Harn enthaltenen Teilchenzahl mit dem Coulter Counter^R

Aus demselben Plastikröhrchen wird sofort nach Erhalt der Urinprobe sowie drei und sechs Stunden später Harn entnommen zur Partikelzählung im Coulter Counter^R Model ZF 6 system der Firma Coulter Electronics limited, Dunstable, Bedfordshire, England.

Dieses Gerät arbeitet nach folgendem Prinzip:

Partikel, die in einem elektrisch leitfähigen Medium, zum Beispiel in der empfohlenen und verwendeten, gut filtrierten, isotonischen, physiologischen Kochsalzlösung Isoton^{R} der Firma Coulter Electronics limited suspendiert sind, werden durch eine genau dimensionierte Kapillaröffnung von 100 µm Durchmesser gesaugt. Diese zwischen zwei Elektroden liegende Öffnung bildet eine im Stromkreis befindliche Meßzone, die den Durchfluß jedes einzelnen Partikels als Impuls wahrnimmt, welcher dem Volumen des Teilchens direkt proportional ist. Der Impuls entsteht dadurch, daß die Partikel im Vergleich zu verdünnten Elektrolytlösungen eine sehr geringe Leitfähigkeit für den elektrischen Strom aufweisen. Die absolute Anzahl der Impulse wird durch fünf Zählröhren festgehalten. Bei jeder Messung wird mittels eines Quecksilbermanometers eine gleich große Suspensionsmenge von 0,5 ml durch die Kapillare gesaugt, wodurch eine Aussage über die Elementkonzentration möglich wird.

Die variable Verstärkerschaltung (Attenuation, Schalterstellung ·707), die es gestattet, auch sehr kleine Stromänderungen zu registrieren, und der Stromschalter (Aperture, Stellung 16), mit dem die Größe des durch einen Partikel hervorgerufenen Impulses verändert werden kann, bleiben am Coulter Counter, der eigentlich nur zur Erythrozyten- und Leukozytenzählung einer Blutprobe gedacht ist, für diese Versuchsreihen unverändert. Ein kontinuierlich regelbarer Diskriminator, der alle Impulse, die kleiner als die durch die Schwellenwerteinstellung (Threshold) gewählten Impulshöhen sind, abfängt, muß zur Messung des hier vorliegenden Untersuchungsgutes neu eingestellt werden. Weil die Harnproben in 90 % der Fälle weniger als 1000 Teilchen pro µl enthalten, ist es neben dieser Änderung der Schwellenwerteinstellung aber

zuerst notwendig, die Suspension aus Urin und Isoton^{R} so zu variieren, daß sich in der Meßlösung ein höherer Anteil an Urin befindet. Denn die Reproduzierbarkeit einer Zählung ist vor allem von der Anzahl der gezählten Partikel abhängig.

Es ist also sinnvoll, möglichst viel Harn mit wenig physiologischer Kochsalzlösung zu vermischen. Der Hersteller macht darauf aufmerksam, daß die Zählergebnisse zwischen 1.000 und 70.000 Partikeln pro 0,5 ml liegen sollen (10). Befinden sich einerseits weniger als 1.000 Elemente in 500 µl Meßlösung, so besteht die Gefahr, daß die isotone Lösung selbst mit ihren eigenen, wenigen Partikeln das Resultat zu sehr beeinflußt, andererseits werden im Coulter Counter mehr als 70.000 Partikel in 0,5 ml Suspensionsmenge nicht exakt gezählt. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen ergeben sich für die verschiedenen Anwendungen des Gerätes folgende Verdünnungen:

Zur Erythrozytenzählung wird die Blutprobe im Verhältnis 1 : 50.000 mit Isoton^{R} vermischt, für die Leukozytenzählung, bei der die roten Blutkörperchen zuvor mit Essigsäure hämolysiert werden, beträgt die Verdünnung noch 1 : 500, das heißt, zu 10 ml Elektrolytlösung kommen 20 µl aus der Blutprobe hinzu. Bei dieser Messung ist die Zellzahl vom Gerät direkt abzulesen, bei der Zählung der Erythrozyten muß mit 100 multipliziert werden.

Da mit elektronischen Zählgeräten in einer Blutprobe, die 10.000 Leukozyten/µl bzw. 5 Millionen Erythrozyten/µl enthält, 10.000 weiße bzw. 50.000 rote Blutkörperchen gezählt werden, ist diese Bestimmungsmethode wesentlich genauer als das Zählkammerverfahren mit 200 bzw. 500 ausgezählten Zellen. Mayr berichtet schon 1965 von seinen Erfahrungen mit dem Coulter Counter Modell A (30).

Bei der Erythrozytenmessung betragen die durchschnittlichen Standardabweichungen im Coulter Counter 0,8 %, in der Kammer 4,3 % vom Mittelwert der Messungen; bei der Leukozytenzählung ergeben sich für den Variationskoeffizienten im Coulter Counter 3,8 %, in der Zählkammer 8,5 %.

Will man die Genauigkeit des elektronischen Gerätes nutzen, so ist auch die zur Leukozytenzählung angewandte Verdünnung zur Messung der im Urin befindlichen Partikel ungeeignet, da im Kubikmillimeter Harn nicht 10.000, sondern meistens keine 1.000 Teilchen vorhanden sind. Aus diesem Grunde, das heißt zur Erhöhung der absoluten Teilchenzahl in der Meßlösung und damit der Zählgenauigkeit, werden zu den 10 ml Elektrolytlösung 1. 1 ml und 2. 2 ml Harn gegeben.

1. Gibt man ein ml Urin zu 10 ml Isoton^{R}, so mißt der Coulter Counter 0,5 ml einer zu $\frac{1 \text{ ml}}{11 \text{ ml}}$. 100 % = 9,09 % mit Harn angereicherten Lösung, das entspricht (500 µl x 0,09 =) 45,45 µl des ursprünglichen Urins. Durch diesen Wert muß das vom Zählgerät angezeigte Ergebnis dividiert werden.

   1.000 Einheiten auf der Anzeige entsprechen deshalb 22 Partikeln/µl und 70.000 Einheiten 1.540 Partikeln/µl Harn.

2. Befinden sich zwei ml Urin in 10 ml Isoton^{R}, so werden 0,5 ml einer zu $\frac{2 \text{ ml}}{12 \text{ ml}}$. 100 % = 16,7 % mit Harn angereicherten Lösung oder 83,3 µl des ursprünglichen Urins gemessen.

   1.000 Einheiten auf der Anzeige des Coulter Counter entsprechen deshalb 12 Partikeln/µl und 70.000 Einheiten 840 Partikeln/µl Harn.

In der Mehrzahl der Fälle ist diese letzte Verdünnung zur Anwendung gekommen, gelegentlich wurde auch eine geringere Urinkonzentration gewählt.

Mit 0,02 ml Harn in 10 ml Kochsalzlösung oder den beiden unter 1. und 2. geschilderten Verfahren ist es somit möglich, tatsächliche Elementezahlen von 12 bis 840, 22 bis 1.540 bzw. 1.000 bis 70.000 zu ermitteln, wobei das Zählgerät selbst 1.000 bis 70.000 Teilchen in einer Suspensionsmenge von 0,5 ml zählt.

Nachdem günstige Verdünnungen für die Meßlösung gefunden sind, muß der Schwellenwertdiskriminator entsprechend eingestellt werden. Er ist für die routinemäßige Zählung der roten und weißen Blutkörperchen so justiert, daß eine 10 auf der Skala des Regelknopfes einer 3 auf einem Skalenausschnitt gegenübersteht (Schwelle 10). Diese Position wurde durch eine Versuchsreihe gefunden. Die ersten auch bei dieser Einstellung durchgeführten Messungen einiger Harnproben ergaben, daß die vom Coulter Counter ermittelten Elementezahlen die mit der Türk-Kammer erhaltenen Ergebnisse um das Zwei- bis mehr als Hundertfache übertrafen, da das elektronische Zählgerät auch mikroskopisch nicht erfaßbare Teilchen berücksichtigte.

Deshalb wurde eine Änderung der Schwellenwerteinstellung vorgenommen, so daß nur stärkere elektrische Impulse bzw. größere Partikel mitgezählt wurden. Es wurden zwei Einstellungen probiert, bei denen zum einen die 20 des Regelknopfes für die Schwellenwerteinstellung (Schwelle 20) und zum anderen die 40 (Schwelle 40) der 3 des Skalenausschnittes gegenüberlagen. Im Laufe dieses Vorversuches zeigte es sich, daß die Schwelle 40 den mit der Zählkammer gewonnenen Werten am nächsten kam, hierbei also die größte Übereinstimmung mit dem tatsächlichen

Partikelgehalt des Harnes bestand.

Um aber sicher zu sein, daß diese Schwelle auch wirklich der optimalen Reglerstellung entspricht, wird der gesamte Hauptversuch nicht nur bei den Schwellen 20 und 40, sondern zusätzlich noch bei der Schwelle 60 durchgeführt. Jede Urinprobe wird also sofort nach Erhalt sowie drei und sechs Stunden später im Coulter Counter bei den Schwellen 20, 40 und 60 gemessen. Weil bei der Schwelle 20 alle Partikel, die mindestens den halben Durchmesser eines durchschnittlich großen Erythrozyten haben, mitgezählt werden - dies ergab sich im Laufe des Vorversuches -, sind bei der Teilchenzählung in der Türk-Kammer neben Leukozyten, Epithelien, Zylindern und Erythrozyten auch Kristalle oberhalb dieser Größenordnung berücksichtigt worden.

Um zu einwandfreien Resultaten zu gelangen, ist es außerdem notwendig, unmittelbar vor jeder elektronischen Zählung die verdünnten Harnproben wieder aufzuschütteln. Dies ergibt sich aus folgenden Meßreihen:

Innerhalb von etwa sieben bis neun Minuten werden von vier Urinverdünnungen 19 bis 24mal die Partikel im Coulter Counter bei der Schwellenwerteinstellung 20 (CC 20) gemessen, ohne zwischendurch zu resuspendieren. Hierbei betragen die Standardabweichungen 2,2 bis 5,1 % vom Mittelwert jeder Meßreihe, aus den Steigungen der Regressionsgeraden ergibt sich, daß jeder Wert durchschnittlich 0,3 bis 0,7 % geringer ist als der vorhergehende, obwohl zwischen zwei Messungen nur etwa 22 Sekunden liegen.

Zum Vergleich sei erwähnt, daß sich in 12 Versuchsreihen bei unmittelbar aufeinander folgenden Zählungen von roten oder weißen Blutkörperchen aus Vollblut in zur Mes-

sung mit dem Coulter Counter geeigneten Verdünnungen Standardabweichungen von 0,9 bis 3,0 % und eine durchschnittliche Abnahme der Werte einander folgender Messungen bis zu 0,3 % ergeben.

In den Tabellen 1 bis 3 sind die Ergebnisse der Teilchenzählung in der Türk-Kammer mit den im Coulter Counter bei den Schwellenwerteinstellungen 20, 40 und 60 ermittelten Werten verglichen. Der Übersichtlichkeit wegen sind die Partikelzahlen in acht Gruppen geordnet, wobei die Grenzen für die einzelnen Gruppen stets angegeben sind.

In Tabelle 1 liegen nur 54 %, in Tabelle 2 schon 75 % und in Tabelle 3 sogar 79 % aller 293 Urinproben in den umrahmten Feldern. In diesen acht Feldern entspricht die Partikelzahlgruppe, die mit dem Coulter Counter ermittelt wurde, der der Türk-Kammer. Gleichzeitig nimmt die Zahl der außerhalb dieser Felder liegenden Harnproben von Tabelle 1 nach Tabelle 3 von 136 auf 73 und schließlich 61 ab. Während in der ersten Tabelle noch 130 von 136 Werten oberhalb der umrahmten Felder aufzufinden sind - in diesen Fällen zählte der Coulter Counter mehr als die Kammer -, befinden sich in Tabelle 3, also bei Schwelle 60 des Coulter Counter, etwa die gleiche Anzahl von Werten oberhalb und unterhalb der besonders markierten Felder. Bei 27 Urinen zählte der Coulter Counter mehr, bei 34 weniger als in der Türk-Kammer bestimmt wurde.

So läßt Tabelle 3 noch etwas besser als Tabelle 2 erkennen, daß es wohl möglich ist, die Elementezählung elektronisch vorzunehmen, da eine gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Kammerzählung und den Resultaten des Zählgerätes besteht.

	Partikel 0= 99	1oo- 249	25o- 499	5oo- 749	75o- 999	1ooo- 1999	2ooo- 3999	≥ 4ooo	Gesamt- zahl	prozentual. Anteil
Türk 0- 99	123	42	21	3	1	4			194	66
1oo- 249	3	1o	19	9	1	1			43	15
25o- 499		1	5	7	2	2			17	6
5oo- 749	1		1	1	2	4		1	1o	3
75o- 999					2	3	2	2	9	3
1ooo-1999						6	2		8	3
2ooo-3999							2	2	4	1
≥ 4ooo								8	8	3
Gesamt- zahl	127	53	46	2o	8	2o	6	13	293	
prozent. Anteil	43	18	16	7	3	7	2	4		1oo

Tabelle 1 Vergleich der Zählergebnisse in der Türk-Kammer mit den Werten des Coulter Counter bei der Schwellenwerteinstellung 2o (Die Summe der Zahlen in den umrahmten Feldern beträgt 157 = 54 %. 293 Harne männlicher und weiblicher Personen)

	Partikel O- 99	1oo- 249	25o- 499	5oo- 749	75o- 999	1ooo- 1999	2ooo- 3999	≥ 4ooo	Gesamt- zahl	prozentual. Anteil
Türk O- 99	169	2o	3		1	1			194	66
1oo- 249	9	24	1o						43	15
25o- 499	1	2	11	2	1				17	6
5oo- 749	1		3	3		2	1		1o	3
75o- 999			1	1		6		1	9	3
1ooo-1999				2		4	2		8	3
2ooo-3999						1	2	1	4	1
≥ 4ooo							1	7	8	3
Gesamt- zahl	18o	46	28	8	2	15	5	9	293	
prozent. Anteil	61	15	1o	3	1	5	2	3		1oo

Tabelle 2 Vergleich der Zählergebnisse in der Türk-Kammer mit den Werten des Coulter Counter bei der Schwellenwerteinstellung 4o (Die Summe der Zahlen in den umrahmten Feldern beträgt 22o = 75 %. 293 Harne männlicher und weiblicher Personen)

	Partikel 0- 99	1oo- 249	25o- 499	5oo- 749	75o- 999	1ooo- 1999	2ooo- 3999	≥4ooo	Gesamt- zahl	prozentual. Anteil
Türk 0- 99	184	8	1		1				194	66
1oo- 249	12	26	5						43	15
25o- 499	2	5	9	1					17	6
5oo- 749	2		3	2	1	2			1o	3
75o- 999		1	2		1	4		1	9	3
1ooo-1999			2		1	3	2		8	3
2ooo-3999				1			2	1	4	1
≥ 4ooo						1	2	5	8	3
Gesamt- zahl	2oo	4o	22	4	4	1o	6	7	293	
prozent. Anteil	69	14	8	1	1	3	2	2		1oo

Tabelle 3 Vergleich der Zählergebnisse in der Türk-Kammer mit den Werten des Coulter Counter bei der Schwellenwerteinstellung 6o (Die Summe der Zahlen in den umrahmten Feldern beträgt 232 = 79 %. 293 Harne männlicher und weiblicher Personen)

Um dies noch einmal mathematisch zu bestätigen, werden folgendermaßen die linearen Korrelationskoeffizienten r ermittelt:

Die den Tabellen 1 bis 3 zugrunde liegenden einzelnen Wertepaare x/y, die sich aus der Zählung jeder Urinprobe sowohl in der Türk-Kammer - hieraus ergeben sich die y-Werte - als auch im Coulter Counter - dies ergibt den x-Wert eines jeden Wertepaares - zusammensetzen, werden in folgende Formeln eingesetzt:

$$r = \frac{m \cdot \sqrt{\Sigma (x_i - \bar{x})^2}}{\sqrt{\Sigma (y_i - \bar{y})^2}} \quad , \text{ wobei}$$

$$m = \frac{\Sigma x_i y_i - \frac{\Sigma x_i \cdot \Sigma y_i}{n}}{\Sigma (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{ist.}$$

Liegt r zwischen 0,75 und 0,95, so spricht man von einer starken Korrelation.

Auf diese Weise errechnen sich die linearen Korrelationskoeffizienten beim Vergleich
a) Coulter Counter Schwelle 20 - Türk-Kammer zu r = 0,900,
b) Coulter Counter Schwelle 40 - Türk-Kammer zu r = 0,917 und
c) Coulter Counter Schwelle 60 - Türk-Kammer zu r = 0,933.
Da in allen drei Fällen eine starke Korrelation vorliegt, kann das Zählkammerverfahren durch die elektronische Partikelzählung ersetzt werden. Man sollte aber allein die bei der Schwellenwerteinstellung 60 gewonnenen Werte berücksichtigen, weil in dieser Stellung der lineare Korrelationskoeffizient am größten ist.

2.c) Bestimmung der relativen Häufigkeit der verschiedenen Teilchen

Schon in der Zählkammer ist es möglich, einen sehr

groben Überblick über die Häufigkeit der verschiedenen in einer Harnprobe enthaltenen Partikel zu gewinnen. Zur genauen Differenzierung ist aber eine Färbung notwendig.

Ungefähr 5 ml des Urins werden 15 Minuten lang mit 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert (Modell der Firma Martin Christ, Osterode/Harz). Anschließend wird der überstehende Harn in einem Zuge abgegossen, das resuspendierte Sediment auf einem Objektträger ausgestrichen und luftgetrocknet. Mit der panoptischen Färbung nach Pappenheim, bei der der Ausstrich zunächst für drei Minuten mit May-Grünwald-Lösung (May-Grünwald-Lösung modifiziert für die Mikroskopie, E. Merck, Darmstadt) bedeckt, dann mit Weise-Puffer (KH_2PO_4 2,45 g, Na_2HPO_4 5,7 g, Aqua dest. ad 5 l) abgespült, darauf mit Giemsa-Gebrauchslösung (1 Volumenteil Giemsa-Lösung für die Mikroskopie, E. Merck, mit 24 Volumenteilen Weise-Puffer gemischt) 15 Minuten lang gefärbt und schließlich mit Aqua destillata abgespült wird, kann unter dem Mikroskop bei 8 x 40 oder 8 x 100facher Vergrößerung in fünf Partikelarten differenziert werden:

1. Lympho- und Monozyten,
2. Granulozyten,
3. Epithelien und Zylinder,
4. Erythrozyten und
5. Kristalle.

In der Mehrzahl der Fälle ist es nicht möglich, 100 oder mehr Teilchen auszuwerten, da die Präparate zu wenige Elemente enthalten. Daraus resultiert eine relativ große Ungenauigkeit bei den Angaben zur relativen Häufigkeit der verschiedenen Partikel.

2.d) Bestimmung des pH-Wertes

Auf Grund der Untersuchungen von Burton, Rowe und Hill (8), die bei sieben Harnproben, die mit HCl oder NaOH auf die pH-Werte 4,5, 5,6, 6,6 und 7,6 eingestellt wurden, einen signifikanten Zellzahlabfall bei ansteigendem pH feststellten und deshalb im Anschluß an die Urinausscheidung zu unverzüglicher Zählung raten, wird in dieser Arbeit bei jedem Harn mit dem Universal-Indikatorpapier pH 1-10 der Firma E. Merck der pH-Wert gemessen.

Da die Farbtöne, die den pH-Werten 5 und 6 entsprechen, einander recht ähnlich sehen, werden zur Auswertung der Ergebnisse diese Werte zu einer Gruppe zusammengefaßt. Stärkere Säuregrade treten nicht auf.

2.e) Der Untersuchungsablauf

Der in einem sterilen Glasröhrchen gesammelte Urin wird für bakteriologische Untersuchungen verwendet. Eine weitere Portion desselben Nachturins wird in ein sauberes Plastikröhrchen entleert. Dieser Harn dient gemäß den vorangehenden Schilderungen zu folgenden Bestimmungen:

1.a) sofort nach Erhalt der Urinprobe Zählung der Partikel im Coulter Counter^{R} bei den Schwellen 20, 40 und 60

b) Gleichzeitig werden etwa 5 ml Harn 15 Minuten lang bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

c) Der Überstand im Zentrifugenröhrchen wird abgeschüttet, das Sediment resuspendiert, auf dem Objektträger ausgestrichen und zur späteren Differenzierung der Partikel luftgetrocknet.

d) Bestimmung des pH-Wertes zur Ermittlung einer Abhängigkeit der Partikelzahl vom Säuregrad

e) Partikelzählung in der Türk-Kammer

1.f) Färben des trockenen Ausstriches
2. 3 Stunden nach Probenerhalt erneute Zählung im Coulter Counter
3. 6 Stunden nach Probenerhalt
   a) Zählung im Coulter Counter
   b) bei starker Abweichung (± 15 %) von 1.a) gegenüber 2. oder 3.a) bzw. von 2. gegenüber 3.a) erneute Zählung in der Türk-Kammer

E R G E B N I S S E

Alle Ergebnisse dieser Arbeit, insbesondere auch die Angaben zur Aussagesicherheit, können nur dann verallgemeinert werden, wenn unterstellt wird, daß die begrenzte Zahl der untersuchten Proben sowie die Verteilung der an Bakterien und Partikeln unterschiedlich armen und reichen Harne die statistische Beurteilung nicht nachteilig beeinflußt.

I. Die Beziehung zwischen Keim- und Teilchenzahl

Bei 292 Urinen männlicher und weiblicher Personen wird in den Tabellen 4 und 4a die Keimzahl einer Harnprobe mit der in dieser Probe befindlichen Teilchenzahl, gemessen mit dem Coulter Counter® bei der Schwellenwerteinstellung 60, verglichen.

Es fällt auf, daß mehr als 85 % aller keimfreien Urine nur 0 - 99 Partikel/µl aufweisen. Im Bereich von 0 - 249 Elementen/µl finden sich über 95 % dieser sterilen 187 Harne. Knapp 2 % der Proben zeigen mehr als 749 Teilchen. Mit anderen Worten läßt sich sagen, daß 98 % der von Mikroorganismen freien Urine weniger als 500 Partikel/µl Harn enthalten.

Ein ähnliches Bild bieten die 26 Urine mit einer Erregerzahl von unter 1.000 bzw. unter 10.000/ml, Urine, die in der Regel auch nicht als "pathologisch" bewertet werden. In diesen beiden Keimzahlgruppen befinden sich immer noch deutlich mehr als 65 % der Harne im Partikelzahlbereich von 0 - 99/µl. 80 % dieser Urine weisen weniger als 250 Teilchen/µl auf. Oberhalb des Bereiches von 0 - 499 Partikeln liegt in diesen Keimzahlgruppen kein Harn.

	Partikel 0-99	1oo-249	25o-499	5oo-749	75o-999	1ooo-1999	2ooo-3999	ab 4ooo	Gesamt-zahl	prozent. Anteil
Keimzahl Ø	16o	2o	4		1		2		187	64
unter 1ooo	1o	2	3						15	5
unter 1oooo	8	1	2						11	4
unter 1ooooo	4	4	2	1		2	2	1	16	5
über 1ooooo	17	13	11	3	3	8	2	6	63	22
Gesamt-zahl	199	4o	22	4	4	1o	6	7	292	
prozent. Anteil	68	14	8	1	1	4	2	2		1oo

Tabelle 4 Beziehung der im Coulter Counter bei der Schwellenwerteinstellung 6o gemessenen Partikelzahl zur Keimzahl
(292 Harne männlicher und weiblicher Personen)

	Partikel 0-99	100-249	250-499	500-749	750-999	1000-1999	2000-3999	ab 4000	Gesamtzahl	prozent. Anteil
Keimzahl Ø	85,6	10,7	2,1		0,5		1,1		187	
unter 1000	66,7	13,3	20,0						15	
unter 10000	72,7	9,1	18,2						11	
unter 100000	25,0	25,0	12,5	6,3		12,5	12,5	6,3	16	
über 100000	27,0	20,6	17,4	4,8	4,8	12,7	3,2	9,5	63	
Gesamtzahl										
prozent. Anteil										

Tabelle 4a Vergleich der fünf Keimzahlgruppen untereinander (Die Summe jeder waagerechten Zeile beträgt 100%, so daß diese Zeilen trotz der unterschiedlichen absoluten Zahlen (siehe Tabelle 4) miteinander verglichen werden können. Probengut wie in Tabelle 4)

Faßt man diese 213 Urinproben, die alle weniger als 10.000 Keime/ml enthalten, zusammen, so zeigt es sich, daß nur drei Harne eine Partikelzahl über 500/µl haben. Mehr als 80 % dieser Urine finden sich im Bereich von 0 - 99 Teilchen/µl. Eine geringe Partikelzahl entspricht also mit großer Wahrscheinlichkeit einer fehlenden oder nicht pathognomonischen Keimbesiedlung des Harnes.

Diese 213 sterilen oder bakterienarmen Harne, die hinsichtlich der Teilchenzahl untereinander große Übereinstimmung zeigen, unterscheiden sich von den 79 Urinen mit über 10.000 bzw. über 100.000 Erregern/ml teilweise sehr deutlich im Partikelgehalt; bei den stark bakterienhaltigen Harnen finden sich nämlich gehäuft auch hohe Teilchenzahlen.

21 Harne oder 27 % weisen weniger als 100 Teilchen/µl auf, 38 Proben bzw. 48 % haben unter 250 Elementen, und im Bereich von 0 - 499 Partikeln finden sich 51 Urine, das sind 65 %. Die 28 Urine oberhalb dieser Teilchenzahl verteilen sich so, daß die Partikelzahlbereiche von 500 bis 999 und 2000 - 3999 schwächer besetzt sind, während bei 1000 - 1999 und ab 4000 Teilchen/µl zwei kleine Maxima auftreten.

Die wesentlichen Unterschiede zwischen den Harnen mit fehlendem oder geringem Keimgehalt und denen mit großem Keimgehalt lassen sich mit wenigen Sätzen darstellen:
Bei den sterilen oder bakterienarmen Urinen liegen im Bereich
von 0 - 99 Partikeln mehr als 80 % aller 213 Urine,
von 0 - 249 Partikeln mehr als 94 % aller 213 Urine und
über 499 Partikeln nur 3 Urine von 213 bzw. 1,4 %.

Bei den stark bakterienhaltigen Urinen liegen im Bereich
von 0 - 99 Partikeln rund 27 % aller 79 Urine,

von 0 - 249 Partikeln rund 48 % aller 79 Urine und
über 499 Partikeln 28 Urine von 79 bzw. 35 %.

Will man auf Grund der in den Tabellen 4 und 4a dargestellten Daten von der Partikelzahl Rückschlüsse auf die in derselben Harnprobe vorliegende Keimzahl ziehen, so ergeben sich die in den Tabellen 5 und 6 veranschaulichten prozentualen Aussagesicherheiten zugunsten eines Urines mit weniger bzw. mehr als 10.000 Bakterien/ml.

Bei Teilchenzahlen unter 100/µl ist eine relevante Keimbesiedlung mit 89 %iger Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Bei den Harnen mit weniger als 10.000 Mikroorganismen/ml vermindert sich die prozentuale diagnostische Sicherheit mit steigender Partikelzahl fast gleichmäßig, während es sich bei den Urinen mit ausgeprägtem Keimgehalt genau umgekehrt verhält; hier werden die hohen Aussagesicherheiten zwischen 67 und 100 % erst ab 500 Teilchen/µl erreicht. Im Durchschnitt ist bei Partikelzahlen von 500 an mit 90 %iger Sicherheit ein erheblicher Keimzahlbefund anzunehmen, ab 4000 Elementen sind stets mehr als 10.000 Bakterien/ml Harn vorhanden. Die prozentualen Sicherheiten allein für die Urinproben mit mehr als 100.000 Erregern/ml sind nicht ganz so günstig; im Bereich ab 500 Partikeln/µl beträgt die durchschnittliche Sicherheit nur 71 %.

Bei den dieser Arbeit zugrunde liegenden Bedingungen kann also bei 79 % aller 292 Harne, das sind die 230 Harne, die unter 100 oder mindestens 500 Teilchen/µl haben, mit 90 %iger diagnostischer Sicherheit entschieden werden, ob ein geringer oder bedeutsamer Keimgehalt vorliegt.

Im Bereich von 100 bis 499 Partikeln liegt eine Unsicherheitszone, hier hat die Wahrscheinlichkeit, daß

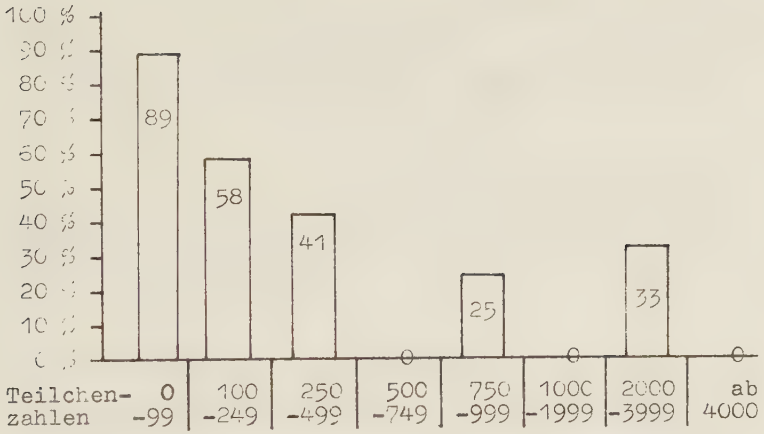

Tabelle 5 Prozentuale Wahrscheinlichkeit, mit der eine Harnprobe je nach Teilchengehalt weniger als 10.000 Keime pro ml hat

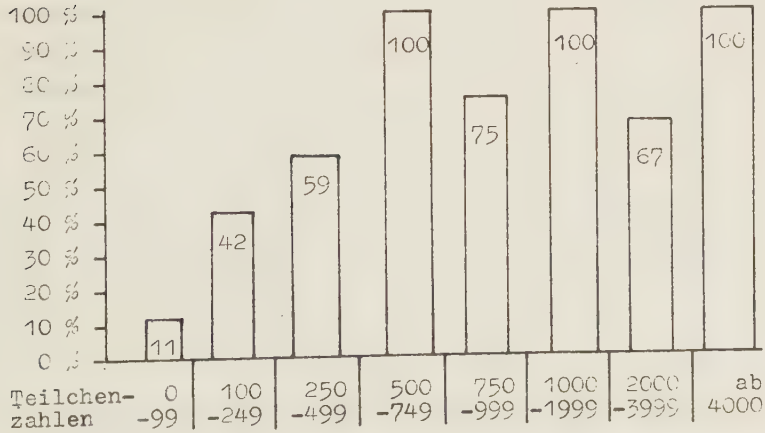

Tabelle 6 Prozentuale Wahrscheinlichkeit, mit der eine Harnprobe je nach Teilchengehalt mehr als 10.000 Keime pro ml hat

Teilchen- und Keimzahl übereinstimmen, eine Chance von nur 41 bis 59 %. Deshalb können die 62 in diesem Partikelzahlbereich liegenden Harnproben bzw. 21 % von 292 Harnproben nicht sicher eingeordnet werden.

Die große Zahl steriler oder bakterienarmer Urine mit weniger als 100 Teilchen/µl steht einer geringen Zahl stark bakterienhaltiger Harne mit niedriger Teilchenmenge gegenüber, so daß diese Bakteriurien nicht zu erkennen sind.

Um zu einer mathematisch faßbaren Aussage zu gelangen, wird folgendermaßen der Korrelationskoeffizient ermittelt:

Die der Tabelle 4 zugrunde liegenden 292 Wertepaare x/y, die sich aus den genauen Ergebnissen der Teilchenzählung im Coulter Counter - hieraus ergeben sich die x-Werte - und der Keimzahlbestimmung - dies ergibt den y-Wert eines jeden Wertepaares - zusammensetzen, werden auf zweierlei Weisen in die auf S. 15 stehenden Formeln eingesetzt.

1. Das Resultat der Partikelzählung wird mit der in derselben Urinprobe vorhandenen Zahl an Mikroorganismen derart verglichen, daß für die Keimzahlgruppe mit mehr als 100.000 Erregern/ml ein Wert von 500.000, für die Gruppe mit unter 100.000 Erregern ein Wert von 50.000, für die Gruppe mit unter 10.000 Erregern 5.000 und für die Gruppe mit unter 1.000 Erregern ein Wert von 500 Bakterien angenommen wird, bei den sterilen Proben wird die Keimzahl gleich Null gesetzt.

   So errechnet sich der lineare Korrelationskoeffizient zu $r = 0{,}299$.

2. Hierbei werden von den Keimzahlwerten 500.000, 50.000, 5.000 und 500 jeweils die entsprechenden Zehnerlogarithmen gebildet, so daß 5,7, 4,7, 3,7 und 2,7

resultieren. Für die sterilen Harne wird wieder eine Null eingestzt ($lg1 = 0$).

Auf diese Art ergibt sich der semi-logarithmische Korrelationskoeffizient

zu $r = 0,292$.

In beiden Fällen ergibt sich also nur eine sehr lose Korrelation zwischen Partikelzahl und Intensität der Keimbesiedlung des Harnes.

Aus der Berechnung des Bestimmtheitsmaßes B zu $B = r^2 = 0,3^2 = 0,09$ folgt, daß sich nur 9 % der Streuung der Teilchenzahl aus der Veränderung der Keimzahl bzw. 9 % der Streuung der Keimzahl aus der Veränderung der Teilchenzahl erklären lassen.

Unter Hinweis auf die im Teil "Methodik" gemachten Ausführungen über die Ähnlichkeiten hinsichtlich der Ergebnisse der Messungen am Coulter Counter^R bei den Schwellenwerteinstellungen 40 und 60 sei noch erwähnt, daß die Resultate, die mit der Schwellenwerteinstellung 40 ermittelt wurden, mit allen in diesem Kapitel gemachten Angaben gut vergleichbar sind.

II. Abhängigkeit der Teilchenzahl in einer Urinprobe von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung bei Zimmertemperatur

Um festzustellen, welchen Veränderungen die Teilchenzahl im zimmerwarmen Urin über längere Zeit unterliegt, wird sofort nach Erhalt der Harnprobe sowie drei und sechs Stunden später im Coulter Counter^R bei der Schwellenwerteinstellung 60 die Partikelzahl ermittelt. Diese drei Werte werden unter Zuhilfenahme der Gleichung x_1 +

$\Delta\% = x_2$ verglichen, wobei x_1 der kleinste und x_2 der größte dieser drei für die Partikelzahl bestimmten Werte ist. Hieraus folgt, daß $\Delta\%$ nur positive Werte annehmen kann. Beispielsweise bedeutet ein Δ von 100, daß x_2 doppelt so hoch ist wie x_1, und es bleibt ganz ohne Bedeutung, ob x_1 oder x_2 den 3-, 3- oder 6-Stunden-Wert darstellt.

In der folgenden Übersicht sind die Zahl n der berücksichtigten Urinproben, der Mittelwert μ der in Prozenten ausgedrückten Differenz ($\Delta\%$) zwischen kleinstem (x_1) und größtem (x_2) Wert für die Teilchenzahl jeder Harnprobe im Laufe von sechs Stunden gemäß der Gleichung $x_1 + \Delta\% = x_2$ und die entsprechende Standardabweichung s ($\Delta\%$) angegeben. In der letzten Spalte ist der Bereich für $\mu \pm 2s$, in dem bei einer Normalverteilung 95,5 % aller Werte liegen, errechnet; dabei unterschreitet die untere Grenze nie 0,0 %, weil $\Delta\%$ ja nicht negativ werden kann.

Anzahl n der Urine	Mittelwert μ ($\Delta\%$)	Standardabweichung s ($\Delta\%$)	%-Bereich $\mu \pm 2s$
293	26,4	46,6	0,0-119,6

Diese erheblichen Streuungen beruhen ganz wesentlich auf den 12 Urinen, deren prozentualen Unterschiede zwischen kleinstem und größtem Wert ($\Delta\%$) mehr als 100 % betragen. Um den unverhältnismäßig hohen Einfluß dieser Harne, die 4 % aller Proben ausmachen, zu veranschaulichen, bleiben sie in der nächsten Berechnung unberücksichtigt.

Anzahl n der Urine	Mittelwert μ ($\Delta\%$)	Standardabweichung s ($\Delta\%$)	%-Bereich $\mu \pm 2s$
281	19,2	17,8	0,0- 54,8

Die Elemente dieser 12 Urine haben zum Teil eine so hohe Senkungsgeschwindigkeit in der zur Messung im Coulter Counter geeigneten Verdünnung, daß sie trotz vorherigen Schüttelns nach ganz wenigen Sekunden schon einen erheblichen Bodensatz bilden, eine einigermaßen exakte Messung im Coulter Counter ist also nicht möglich.

Allein mit einer mehr oder weniger hohen Senkungsgeschwindigkeit der Teilchen im Harn wird sich freilich nicht ausreichend erklären lassen, warum bei 95,5 % aller Urine der größte der drei innerhalb von sechs Stunden ermittelte Zahlenwert den kleinsten um bis zu 54,8 bzw. sogar 119,6 % übersteigt. Geht man zur Berechnung des Δ% nicht vom kleinsten der drei Ergebnisse aus, sondern von einem aus dem höchsten und niedrigsten Wert gebildeten Mittel x, dann liegen 95,5 % aller Proben im Bereich von $x \pm 22$ bzw. $x \pm 37$ %. Vielleicht kann ein Teil dieser Streuungen um den Mittelwert x auch mit Fehlern beim Pipettieren der drei Meßlösungen für die 0-, 3- und 6-Stunden-Zählungen begründet werden.

Hiermit ist nur eine Aussage getroffen über die Höhe der Differenz unter den im Laufe von sechs Stunden dreifach gewonnenen Partikelzahlwerten, wobei der zeitliche Bezug zur Änderung der Teilchenzahl unberücksichtigt bleibt. Deshalb ist noch zu berechnen, wie häufig bei den insgesamt 293 Urinproben die sofortige Partikelzählung den höchsten oder niedrigsten Wert ergibt, bzw. wie oft dies bei der Zählung nach drei und nach sechs Stunden der Fall ist.

Aus den Tabellen 7 und 8 läßt sich über den Verlauf von sechs Stunden hinweg keine Teilchenzahlzu- oder -abnahme erkennen. Die gemessenen Streuungen der Partikelzahlen von ± 22 bzw. ± 37 % um den Mittelwert x sind also von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung einer

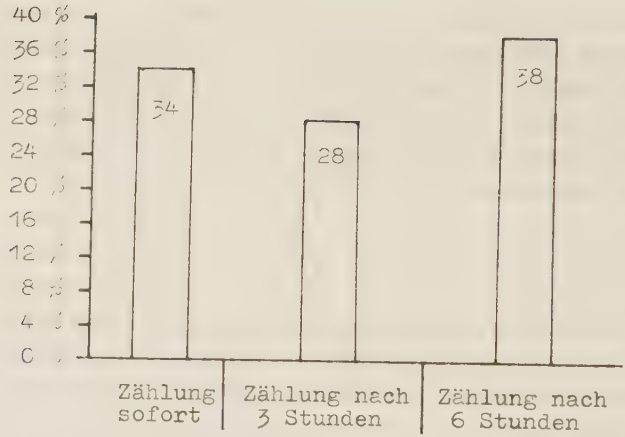

Tabelle 7 Prozentuale Häufigkeit, mit der bei den drei verschiedenen Zählungen die höchsten Teilchenzahlen auftreten

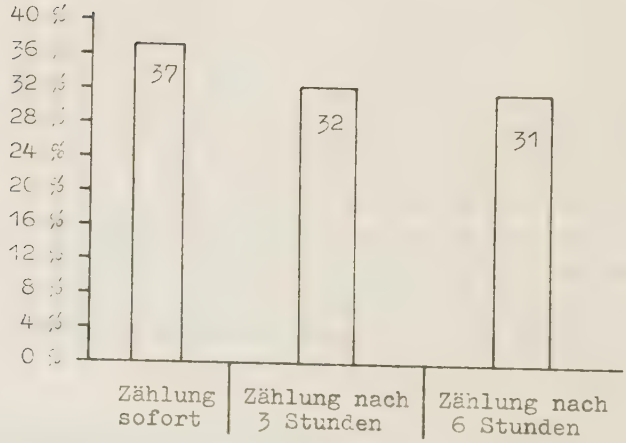

Tabelle 8 Prozentuale Häufigkeit, mit der bei den drei verschiedenen Zählungen die niedrigsten Teilchenzahlen auftreten

Urinprobe unabhängig.

Die Werte, die bei der Schwellenwerteinstellung 40 im Coulter Counter^{R} ermittelt wurden, führen zu Resultaten, die mit den in diesem Kapitel dargestellten Daten sehr gut vergleichbar sind.

III. Abhängigkeit der Teilchenzahl von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes

Um festzustellen, ob der pH-Wert einer Urinprobe einen spezifischen Einfluß auf das langfristige Verhalten der Teilchenzahl ausübt, werden die 293 Proben in vier Gruppen unterteilt:

Gruppe 1: 231 Harne mit den pH-Werten 5, 5,5 und 6,
Gruppe 2: 26 Harne mit dem pH-Wert 6,5,
Gruppe 3: 21 Harne mit den pH-Werten 7 und 7,5 und
Gruppe 4: 15 Harne mit den pH-Werten 8, 8,5 und 9.

Ähnlich wie im vorhergehenden Kapitel II. sind in der nächsten Berechnung getrennt für jede einzelne Gruppe die Mittelwerte μ der in Prozenten ausgedrückten Differenz zwischen kleinstem und größtem Wert für die Partikelzahl jeder Urinprobe im Laufe von sechs Stunden und die Standardabweichungen s angegeben.

Gruppe	Mittelwert μ (Δ%)	Standardabweichung s (Δ%)	%-Bereich $\mu \pm 2s$
1-4	26,4	46,6	0,0-119,6
1	24,0	47,3	0,0-118,6
2	24,7	21,8	0,0- 68,3
3	30,6	34,8	0,0-100,2
4	60,2	68,0	0,0-196,2

In Gruppe 2, also bei einem pH-Wert von 6,5, treten innerhalb von sechs Stunden mit weitem Abstand die geringsten Schwankungen der Teilchenzahlen auf. Dann folgen die Harne der Gruppen 3 und 1, auch ihre Streubreiten liegen noch unter dem Durchschnittswert. Sehr deutlich heben sich die Ergebnisse für die 15 Urinproben mit den pH-Werten von 8 bis 9 von allen vorhergehenden ab, hier sind die Unterschiede zwischen dem kleinsten und größten im Laufe von sechs Stunden für die Partikelzahl gemessenen Wert im Durchschnitt am allerhöchsten. Dies ist ganz wesentlich auf drei der 15 Harne, die ein Δ % von über 100 % haben, zurückzuführen.

Ermittelt man getrennt für alle vier Gruppen, wie häufig die sofortige Teilchenzählung den höchsten oder niedrigsten Wert ergibt, bzw. wie oft dies bei der Zählung nach drei und nach sechs Stunden der Fall ist, so ergeben sich die folgenden Werte.

Gruppe	Die höchsten Teilchenzahlen treten auf		
	bei sofortiger Zählung zu	nach 3 Stunden zu	nach 6 Stunden zu
1-4	34 %	28 %	38 %
1	33 %	28 %	39 %
2	39	19 %	42 %
3	33 %	29 %	38 %
4	47 %	33 %	20 %

Gruppe	Die niedrigsten Teilchenzahlen treten auf		
	bei sofortiger Zählung zu	nach 3 Stunden zu	nach 6 Stunden zu
1-4	37	32 %	31 %
1	36 %	35 %	29 %
2	42 %	27 %	31 %
3	38 %	14 %	48 %
4	27 %	20 %	53

In den ersten drei Gruppen ist keine von der Zeit abhängige Partikelzahlveränderung erkennbar. Bemerkenswert bei den 15 Proben der Gruppe 4 ist, daß bei knapp der Hälfte dieser Harne die sofortige Messung die höchsten Werte ergibt, und daß dementsprechend nach sechs Stunden bei fast der gleichen Probenzahl die niedrigsten Resultate auftreten.

Insgesamt erscheint es sehr fragwürdig, ob in einer der vier Gruppen tatsächlich eine zeitlich abhängige Teilchenzahlveränderung existiert.

IV. Die Erreger in den Harnwegen

Abschließend ist in Tabelle 9 angegeben, mit welcher prozentualen Häufigkeit die verschiedenen Keimarten in den insgesamt 79 Urinproben mit unter und über 100.000 Bakterien/ml Harn vertreten sind.

Wegen der häufig vorliegenden Mischinfektionen beträgt die Summe der Prozentwerte mehr als 100 %.

Keimart	In 63 Proben mit über 100.000 Keimen/ml zu %	In 16 Proben mit unter 100.000 Keimen/ml zu %
E. coli	51	38
Streptococcus faecalis	27	19
Proteus	24	44
Pseudomonas aeruginosa	16	19
Klebsiella	11	13
Citrobacter	6	6
Enterobacter	5	-
Staphylococcus aureus	5	-
Staphylococcus epidermidis	3	-
anhämolysierende Streptokokken	2	6

Tabelle 9 Prozentuale Häufigkeit verschiedener Keimarten

D I S K U S S I O N

I. Diskussion zur Methodik

1. Zur Verwendung von Mittelstrahlurin

Insbesondere bei Frauen wird im Hinblick auf die bakteriologische Befundung der Aussagewert des Untersuchungsergebnisses beim Mittelstrahlurin häufig für gering gehalten, da eine kontaminationsfreie Gewinnung nicht gewährleistet sei. Teilweise wird sogar gefordert, eine antibiotische Behandlung nur nach den Befunden des Blasenpunktionsurins auszurichten (26).

In dieser Arbeit wurde das Untersuchungsgut aber bewußt vorwiegend als Mittelstrahlurin gewonnen, zum einen, um der Praxis der meisten Krankenhäuser und niedergelassenen Ärzte zu entsprechen, zum anderen, um den Patienten eine Mehrbelastung zu ersparen, vor allem aber, um die für jeden Screening-Test zu fordernde unproblematische und gefahrlose Durchführbarkeit zu erhalten. Auch wird von anderer Seite bestätigt, daß bei der Untersuchung des Mittelstrahlurins durchaus verwertbare quantitative Ergebnisse ermittelt werden (3).

Die richtige Anwendung der Mittelstrahlurintechnik setzt allerdings ganz wesentlich die Kooperationswilligkeit und -fähigkeit des Patienten voraus. (28)

2. Die bakteriologische Untersuchung

Ganz wenige insbesondere anaerobe Keime wurden bei der bakteriologischen Keimzahlbestimmung nicht berücksichtigt. Durch die zusätzlich durchgeführte Keimartbestim-

mung wurde festgestellt, daß bei keiner Harnprobe anaerob wachsende Mikroorganismen auftraten. Dies entspricht auch den in der Literatur vertretenen Auffassungen (14, 27, 32, 33).

4. Zu den Fehlern der Zählverfahren

Die Zählkammerzählung und die elektronische Zählung sind mit Fehlerrisiken behaftet; für den Coulter Counter^{R} sind zum Beispiel die mangelhafte Reinheit der verwendeten Kochsalzlösung, Fehler bei der Verdünnung, falsche Einstellung des Schwellenwertes und eine Verlegung der Kapillaröffnung durch Partikel zu nennen.

Insgesamt sind jedoch wegen der hohen Zählquote beim Coulter Counter die möglichen zufälligen Fehler weitaus geringer (1, 30, 35).

Wegen der Zählgenauigkeit und der Einfachheit des Verfahrens lag es nahe, den Coulter Counter auch zur Zählung zelliger Bestandteile im Urin heranzuziehen. Bis heute liegen keine Untersuchungen darüber vor, in wie weit sich der Coulter Counter hierzu eignet (9).

Die unter "Methodik" beschriebenen Ergebnisse der vergleichenden Zählungen zeigen, daß es sehr wohl möglich ist, die Partikelzählung durch ein elektronisches Gerät vorzunehmen. Es ist hierbei notwendig, die Schwellenwerteinstellung zu korrigieren, damit die zahlreichen kleinen Teilchen, die eine Verunreinigung darstellen oder als Detritus zu betrachten sind und vom mikroskopierenden Auge nicht registriert werden, nicht mitregistriert werden. Außerdem ist im Vergleich zu Zählungen von Blutproben eine weniger starke Verdünnung zu wählen,

weil der Partikelgehalt geringer ist.

II. Diskussion der Ergebnisse

1. Zur Beziehung zwischen Keim- und Teilchenzahl

Die Darstellung der Ergebnisse (s. S. 19 ff.) zeigt, daß nur eine sehr lose Korrelation zwischen Partikelzahl und Intensität der Keimbesiedlung des Harnes besteht. Deshalb kann die bakteriologische Zählung der Mikroorganismen nicht durch eine Zählung der zelligen Bestandteile vollwertig ersetzt werden. Es scheint jedoch möglich, die elektronische Zellzählung als Screening-Test zur Feststellung noch nicht erkannter, aber behandlungsbedürftiger Harnweginfektionen zu nutzen, weil der Zellgehalt des Urins die Reaktion der Harnwege auf eine Irritation ausdrücken kann.

Unter Harnweginfektion im weiteren Sinne versteht man eine undifferenzierte Bezeichnung für den Nachweis von Keimen im Urin. Die Möglichkeit einer bakteriellen Kontamination des Urins ist dabei mit eingeschlossen. Enger gefaßt, bedeutet Harnweginfektion eine Ausscheidung von Bakterien aus dem Urogenitaltrakt. Es kann sich dabei um eine asymptomatische Bakteriurie mit Bakterienausscheidung ohne Zeichen einer Gewebsreaktion oder um eine Bakteriurie mit verschieden stark ausgeprägter klinischer Symptomatik handeln. Festzuhalten bleibt deshalb vor allem, daß nicht jede Bakteriurie bedeutsam und gefährlich und somit behandlungsbedürftig ist. (15)

Als Kardinalsymptom der stets behandlungsbedürftigen Pyelonephritis gilt ein pathologischer Harnbefund. Bei Verdacht auf eine Pyelonephritis schließt ein normaler Harnbefund nach einmaliger Untersuchung eine solche noch

nicht aus, da die Leukozyten- wie die Bakterienausscheidung intermittierend auftreten können (14, 38). Während des Abfalls der erhöhten Körpertemperatur bessert sich die Nachweisbarkeit pathologischer Urinbefunde (2). Es empfiehlt sich etwa die Untersuchung an drei aufeinander folgenden Tagen.

Zahlreiche Autoren vertreten die Auffassung, daß bei einer behandlungsbedürftigen Harnweginfektion der Nachweis einer Leukozyturie regelmäßiger anzutreffen und bedeutsamer ist als das Vorliegen einer Bakteriurie, da nur zellige Bestandteile als direkte Entzündungszeichen gelten und etwas über die Reaktion der Harnwege aussagen können.

Gekle und Fischer (14) fanden bei fast allen von 711 an einer Pyelonephritis erkrankten Patienten unter 16 Jahren eine Leukozyturie. Bei nur 48 % der Säuglinge bzw. 53 % der Kinder wurde eine Bakteriurie registriert. Lampen (27) nennt als klinische Symptome der chronischen Pyelonephritis bei 163 Erkrankten zu 98,8 % die Leukozyturie und zu 91,2 % die Bakteriurie. Naumann (32) ermittelte in 1221 von 4340 Urinproben ein mehr oder weniger starkes Leukozytensediment. Diese Proben zeigten damit die Kriterien eines entzündlichen Geschehens, die nach den Befunden von Roemer und Mai (37) über die Beziehung zwischen Antikörpertiter im Serum gegen die im Harn gefundenen Keime (Enterokokken) und Ausmaß der Leukozyturie beweisender sein dürften als die Bewertung der Keimzahlen pro ml Urin, wie sie besonders von Kass (25) eingeführt wurde.

Kass (22-24) legte als Grenze zur signifikanten Bakteriurie 10^5 Keime pro ml in frischem Mittelstrahlurin fest. Zahlreiche andere Untersucher ziehen sowohl für Erwachsene als auch für Kinder 10^3 bis 5×10^4 Erre-

ger als Grenzwerte vor (5). Klinische Beobachtungen bestätigen die Bedeutung dieser Grenzwerte nicht immer; sowohl bei akuter als auch chronischer Pyelonephritis werden im Urin oft weniger als 10^4 Erreger pro ml gezählt, andererseits werden gelegentlich auch ohne die geringsten Zeichen einer Harnweginfektion mehr als 10^5 Keime pro ml gefunden (5).

So schreibt Rinsche (36), daß man generell bei einer Keimzahl von mehr als 10.000 pro ml Mittelstrahlurin eine signifikante Bakteriurie annehmen könne. Dieser Grenzwert erscheint deshalb unter Berücksichtigung zahlreicher Literaturangaben als Orientierungshilfe besser geeignet. Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich anhand der Ergebnisse (s. S. 19 ff.), daß die Grenze zwischen sterilen oder nur kontaminierten Harnproben auf der einen Seite und vermutlich relevanten Keimbesiedlungen auf der anderen Seite eher bei 10.000 Bakterien pro ml anzunehmen ist.

Trotzdem bleibt es problematisch, auf Grund der Urinkeimzahl eine manifeste Krankheit anzunehmen (31). Da eine Leukozyturie jedoch regelmäßiger als eine Bakteriurie gefunden wird und nur Leukozyten im Urin als direkte Entzündungszeichen gelten können, ist ihr Nachweis für eine behandlungsbedürftige Harnweginfektion von größerer klinischer Relevanz. Dabei schwanken die Angaben für die pathologische Bedeutung einer Leukozyturie zwischen 10 und 100 weißen Blutkörperchen pro µl (6, 12, 20, 29, 34, 39).

Bei der elektronischen Zellzählung werden neben Leukozyten Epithelien, Zylinder, Erythrozyten und Kristalle mitgezählt. Eine versuchte Differenzierung der zelligen Bestandteile nach prozentualer Häufigkeit konnte wegen der geringen Zahl der Partikel in den meisten Ausstri-

chen nicht beibehalten werden. Im Rahmen eines Screening-Tests ist die Mitzählung von Kristallen noch zu tolerieren, die Mitzählung der anderen Teilchen ist pathophysiologisch durchaus vorstellbar, da Erythrozyten, Epithelien und insbesondere Leukozytenzylinder pathognomonisch für eine chronische Pyelonephritis sind.

Das ausführlich dargelegte elektronische Zählverfahren muß mit den nachfolgend kurz skizzierten Methoden verglichen werden, die als Screening-Tests zur Verfügung stehen (11, 16, 40).

a) Verfahren zur optischen Suche nach Bakterien

1) Sedimentuntersuchung: Dauer und Geschwindigkeit des Zentrifugierens sowie die mikroskopische Vergrößerung bedürfen einer Standardisierung. Je weniger Keime pro Gesichtsfeld als Bakteriurie oder als bakteriurieverdächtig angesehen werden, desto größer ist die Empfindlichkeit, gleichzeitig muß eine hohe Rate an falsch-positiven Befunden in Kauf genommen werden.

2) Gefärbtes Präparat: Der nicht zentrifugierte Harn wird nach Gram oder mit Methylenblau gefärbt. Die Fehlerquoten sind etwas geringer als beim ersten Verfahren.

b) Chemische Verfahren

1) Nitrit-Test: Mit der Griess'schen Probe wird Nitrit nachgewiesen, das intravesikal durch bakterielle Reduktion aus Nitrat entsteht. Hierzu sind jedoch nicht alle Mikroorganismen imstande. Manche Keime bauen Nitrit weiter ab, so daß aus diesem Grunde der Test negativ ausfallen kann.

Die handelsübliche Teststreifenmethode scheint der einfachste und schnellste Screening-Test zu sein.

2) TTC-Test: Dieser Test beruht auf der Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) nach vierstündiger Inkubation mit einem stark bakterienhaltigen Urin, wodurch ein roter Niederschlag entsteht. Der Test ist gebrauchsfertig in Tablettenform und in Pulverform im Handel.

3) Glucose-Test: Mit einem empfindlichen Teststreifen werden sehr geringe Mengen von Glucose (etwa 15 mg/l) nachgewiesen, die auch normalerweise beim Gesunden im Urin vorhanden sind, aber mit den bekannten Teststreifenmethoden zur Erkennung einer Glukosurie zum Beispiel beim Diabetes mellitus nicht erfaßt werden. Verwendung finden kann nur Morgen- und Nüchternurin, außerdem ist eine sehr schnelle Verarbeitung des Harns nach der Miktion Voraussetzung.

4) Katalase-Test: Dieser Test ist nicht empfehlenswert, da der Nachweis von Katalase nicht nur bei Anwesenheit von Bakterien, sondern auch von Leukozyten und anderen Gewebselementen gelingt.

c) Kulturelle Verfahren

Keimzählungen können in jedem bakteriologischen Laboratorium durchgeführt werden. Bei den Eintauch- oder Transportmedien, zum Beispiel Uricult^{R} (Orion, Helsinki/Finnland), kann aus der Anzahl der gewachsenen Kolonien die Keimzahl berechnet oder durch Vergleich mit einer Vorlage direkt abgelesen werden. Bei allen

diesen Verfahren ist eine Inkubation von mindestens 24 Stunden erforderlich.

Neben der bekannten Leukozytenzählung, bei der Grenzwerte pro ml Urin oder pro 12 bzw. 24 Stunden (18, 19) angegeben werden, ist noch der Leukozytennachweis im Harn mit einem Teststreifen (Cytur-Test^{R}, Boehringer, Mannheim) zu nennen. Bei einer Reaktionszeit von 15 Minuten zeigt diese Methode eine fast 90 %ige Übereinstimmung mit der Kammerzählung der weißen Blutkörperchen im unzentrifugierten Harn (7).

Der Provokationstest mit Pyrexal oder besser Prednisolon (29) führt beim Bestehen einer chronischen Pyelonephritis zu einem Anstieg der Leukozyturie um mindestens 100 %. Während der positive Test für eine chronische Pyelonephritis beweisend ist, schließt ein negatives Ergebnis sie nicht sicher aus (14). Außerdem kann die Exazerbation einer chronischen Pyelonephritis provoziert werden (6).

Zuletzt sei noch auf die Harntrübung hingewiesen. 40 % aller Fälle mit einer floriden Pyelonephritis lassen jedoch keine Harntrübung erkennen, so daß dieses Kriterium als Suchtest ungeeignet erscheint. (13)

Bei den unter a) bis c) vorgestellten Suchmethoden handelt es sich um Verfahren, die qualitativ oder auch quantitativ Bakterien nachweisen. Teilweise wird auch die Kombination zweier Methoden empfohlen (11). Das Prinzip der Keimzählung als Parameter für Infektionen bzw. Kontaminationen kann aber zu grundsätzlich falschen Ergebnissen führen, da - wie bereits oben erwähnt - Bakteriennachweis nicht als Kriterium eines entzündlich-krankhaften Geschehens gelten kann. Jedoch können auch

Bakteriurien ohne klinische Begleitsymptome vor allem bei Schwangeren, Diabetikern und Kindern Ursache pathologischer Veränderungen sein, wenn sie nicht beseitigt werden. Findet man bei einem beschwerdefreien Patienten eine große Zahl von Erregern im Harn, die sich mit Sicherheit nicht auf Verunreinigungen zurückführen läßt, dann ist dies noch kein Beweis für das Vorliegen einer Pyelonephritis oder Zystitis. Die mögliche Gefährdung des Patienten darf jedoch nicht übersehen werden. (40)

	Bakteriurien erfaßt %	falsch-positive Tests %
a) Optische Verfahren		
Sedimentuntersuchung	90- 98	4-24
Dauerpräparat	80- 97	5-15
b) Chemische Verfahren		
Nitrit	35- 97	0,1- 1
BTC	49- 98	2- 8
Glucose	90- 95	2- 8
Katalase	43- 91	20-40
c) Kulturelle Verfahren	90-100	1- 7
Elektronische Partikelzählung	35	10

Tabelle 10 Treffsicherheit und Zuverlässigkeit von Suchmethoden zur Erfassung von Bakteriurien (16, korrigiert nach 11)

Bei der elektronischen Partikelzählung enthalten von 292 Urinproben 213 weniger als 10.000 Keime pro ml, hiervon zeigen 178 Proben weniger als 100 Teilchen. 79 Proben weisen mehr als 10.000 Erreger pro ml und damit eine Bakteriurie auf, hiervon enthalten 28 500 und mehr Elemente, so daß nur $\frac{28}{79}$ x 100 % = 35 % der Bakteriurien sicher erfaßt werden. Wesentlich in diesem Zusammenhang

ist, daß in der Unsicherheitszone von 100 bis 499 Teilchen pro µl weitere 30 Harnproben mit einem Keimzahlbefund von über 10.000 pro ml liegen. Insgesamt 62 von 292 Proben = 21 % können wegen der unzureichenden Aussagesicherheit, die zwischen 41 und 59 % liegt (s. Tab. 5 und 6), nicht sicher beurteilt werden, so daß sich eine Kontrolluntersuchung oder eine andere Suchmethode empfiehlt.

In nur drei Proben mit weniger als 10.000 Keimen pro ml fanden sich mehr als 499 Partikel pro µl, so daß zu $\frac{3}{31} \times 100 \%$ = 10 % falsch-positive Ergebnisse vorliegen, soweit man die Bakteriurie als Kriterium für eine Harnwegentzündung heranzieht. Bei 21 von 79 Urinen mit einer Bakterienzahl von mehr als 10.000 pro ml wurden weniger als 100 zellige Bestandteile pro µl ermittelt, so daß bei 27 % dieser Harne falsch-negative Ergebnisse festgestellt wurden.

Zur Erfassung von Bakteriurien oder Leukozyturien als Symptome insbesondere einer Pyelonephritis steht eine Reihe von Suchmethoden mit unterschiedlicher Treffsicherheit und größerem oder kleinerem Arbeitsaufwand zur Verfügung. Ordnet man die Tests nach zunehmendem Aufwand, so steht der Nitrit-Test als Teststreifenmethode an erster Stelle (16). Als nächstes ist der Cytur-Test^{R} zu nennen.

Dann folgt das in dieser Arbeit vorgestellte Verfahren, das sich in mehrfacher Hinsicht von anderen unterscheidet:

*) Hier handelt es sich um den Nachweis von zelligen Bestandteilen, die sicherer als Bakterien auf eine entzündliche Gewebsreaktion hinweisen.

Die Auswertung kann innerhalb kürzester Zeit bei nur geringen Kosten durchgeführt werden.

3) Es werden nur 35 % der Bakteriurien sicher erfaßt. In etwa 10 % kommt es zu falsch-positiven Testergebnissen. Außerdem besteht eine Unsicherheitszone, in der sich 21 % aller Untersuchungen befinden. In diesen Bereich fallen weitere 30 Harne mit erhöhten Keimzahlen, das sind $\frac{30}{79}$ x 100 % = 38 % aller Bakteriurien.

Mit zunehmendem Arbeitsaufwand folgen danach das genormte Sediment und die gefärbten Präparate sowie die Eintauchmedien, die allerdings eine 24stündige Bebrütung erfordern. Ferner ist der TTC-Test mit einer vier- oder sechsstündigen Bebrütung zu nennen. Der Glucose-Test ist zwar in seiner Durchführung einfach, liefert aber nur bei strikter Einhaltung verschiedener Bedingungen zuverlässige Ergebnisse. Kulturelle Methoden erfordern ein bakteriologisches Laboratorium und stellen damit schließlich das aufwendigste Verfahren dar.

Eine Bakteriurie geht nicht immer mit einer hohen Partikelzahl einher, so daß die bakteriologische Harnuntersuchung nicht durch die Zählung der zelligen Bestandteile zu ersetzen ist. Die elektronische Zellzählung kann aber als Screening-Test zur Feststellung noch nicht erkannter Harnweginfektionen dienen; 500 und mehr Elemente pro µl Urin machen eine manifeste Entzündung zu 90 % wahrscheinlich, bei Teilchenzahlen unter 100 pro µl ist eine relevante Keimbesiedlung mit 89 %iger Sicherheit auszuschließen. Es werden nur 35 % der Bakteriurien sicher erfaßt, in 21 % der Fälle ist keine endgültige Bewertung möglich, und zu 10 % liefert das Verfahren falsch-positive Resultate. Diesen nicht ganz befriedigenden Ergebnissen stehen mit der Schnelligkeit und Problemlosigkeit der Durchführung sowie mit der Preisgünstigkeit der Methode deutliche Vorteile gegenüber. Außerdem kann die Partikelzahl noch mehrere Stunden nach der Miktion er-

mittelt werden, ohne daß eine Konservierung des Harns erforderlich ist, da innerhalb von sechs Stunden auch unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes keine eindeutige Änderung der Teilchenzahl nachgewiesen werden konnte.

Aus statistischer Sicht von Nachteil sind die nicht zufällige Gewinnung der knapp 500 Harnproben, die aus dem weitgehend unbeeinflußten Untersuchungsgut der Bakteriologie eines größeren Akutkrankenhauses stammen, sowie die ungleichgewichtigen Gruppen von Urinen mit unterschiedlichen Keim- und Teilchenzahlen. Nur unter Berücksichtigung dieser Umstände dürfen die Ergebnisse und insbesondere die prozentualen Angaben zur Aussagesicherheit verallgemeinert werden.

2. Zur Abhängigkeit der Teilchenzahl von der Zeit zwischen Gewinnung und Untersuchung einer Harnprobe bei Zimmertemperatur, auch unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes

Die elektronische Zählung der Teilchenzahl sofort nach Erhalt der Harnprobe sowie drei und sechs Stunden später zeigt erhebliche, von der Zeit jedoch unabhängige Schwankungen. Insbesondere kann hieraus aber nicht geschlossen werden, daß im Laufe von sechs Stunden die Partikelzahl signifikant abnähme. Dieser Umstand erlaubt somit eine Zählung der zelligen Bestandteile auch noch nach mehreren Stunden. Stansfeld (44) und vor allem Houghton und Pears (18) kommen in ihren Untersuchungen zu ganz ähnlichen Ergebnissen.

Ursächlich für diese Unterschiede ist wahrscheinlich neben den verschiedenen zufälligen Fehlern des Zählverfahrens eine auch nach dem Aufschütteln nicht ganz homogene

Verteilung der Elemente in der Urinprobe, was insbesondere auf die geringe Teilchendichte des Untersuchungsgutes zurückzuführen sein dürfte.

Auch scheint die Änderung der Partikelzahl in der Zeitspanne zwischen Gewinnung und Untersuchung des Harns vom pH-Wert unabhängig. Es ließ sich kein sicherer Anhalt für einen signifikanten Zellzahlabfall bei ansteigendem pH-Wert feststellen. Bei den Untersuchungen von Burton, Rowe und Hill (8) ist vor allem zu berücksichtigen, daß nur sieben Urinproben die Grundlage bildeten.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Durch die parallele Untersuchung von fast 300 Harnproben mit der Türk-Kammer und dem Coulter Counter^{R} konnte gezeigt werden, daß es bei einem Korrelationskoeffizienten von r = 0,933 möglich ist, auf elektronischem Wege die im Urin vorhandene Gesamtzahl an zelligen Bestandteilen als Ausdruck einer manifesten Harnwegentzündung zu messen. Die elektronische Zählung kann deshalb das Zählkammerverfahren ersetzen; eine Differenzierung der einzelnen Partikelarten ist hierbei aber nicht möglich.

Da eine sehr lose Korrelation zwischen Partikelzahl und Intensität der Keimbesiedlung nachgewiesen werden konnte, scheint es möglich, die elektronische Zellzählung als Screening-Test zur Feststellung nicht erkannter Harnweginfektionen zu nutzen.

Es werden 35 % aller Bakteriurien sicher erfaßt. Die falsch-positiven Ergebnisse liegen bei 10 %. In einer Unsicherheitszone befinden sich 21 % aller Harne; hier ist eine Kontrolluntersuchung oder eine andere Suchmethode indiziert. Werden weniger als 100 Partikel pro µl ermittelt, so handelt es sich mit 89 %iger Sicherheit um sterile oder nur kontaminierte Urinproben. Bei Partikelzahlen ab 500 pro µl findet sich mit 90 %iger Sicherheit ein Harn mit mehr als 10.000 Erregern pro ml.

Für die Anwendung dieses Verfahrens ist von wesentlicher Bedeutung, daß mit dem Nachweis von Leukozyten im Urin ein direktes Entzündungszeichen für den Nachweis einer Harnwegentzündung festgestellt wird. Dabei erweisen sich die ebenso unproblematische und schnelle Handhabung des Verfahrens wie nicht zuletzt seine Preiswertigkeit als besonders vorteilhaft.

Auch unter besonderer Berücksichtigung des pH-Wertes ergab sich keine signifikante Abnahme der Partikelzahl innerhalb der sechsstündigen Zeitspanne von der Harnprobengewinnung bis zur Auszählung der Teilchen bei Zimmertemperatur, so daß also die Partikelzahl noch mehrere Stunden nach der Miktion zuverlässig ermittelt werden kann.

Literaturverzeichnis

1 AKEROYD, J. H., GIBBS, M. B., VIVANCO, S. u. ROBINETTE, R. W., On counting leukocytes by electronic means. American Journal of Clinical Pathology 31: S. 188 (1959)

2 BERNING, H., Die Diagnose der akuten Pyelonephritis. Deutsche Med. Wschr. 90: S. 1213 (1965)

3 BÖHLCK, I. u. LOCKERT, G., Beitrag zur Frage der quantitativen Urindiagnostik. Med. Welt 22: S. 985 (1971)

4 BOEHRINGER, Mannheim, Test-Fibel Uricult^{R}. Boehringer, Biochemica 1971 und Diagnostica 1976

5 BREUNING, M. u. BREUNING, M. M., Kriterien der Keimzahlbestimmung im Urin. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene - Originale 216: S. 239 (1971)

6 BRÜHL, P., MÜLLER-MARIENBURG, H. W. L. u. SÖKELAND, J. Beurteilung von Harnbefunden in der urologischen Diagnostik. Münchener Med. Wschr. 109: S. 1448 (1967)

7 BRÜHL, P., FUCHS, T. u. v. a., Leukozyten-Nachweis im Urin mit einem Teststreifen - Kooperative Studie. Deutsche Med. Wschr. 104: S. 1236 (1979)

8 BURTON, J. R., ROWE, J. W. u. HILL, R. N., Quantitation of Casts in Urine Sediment. Anuals of Internal Medicine 83: S. 518 (1975)

9 COULTER Electronics G. m. b. H., Coulter Counter^{R} - Medical and Biological Bibliography May 1977

10 COULTER Electronics limited, Dunstable, Bedfordshire, England, Anleitungs- und Wartungsbuch zum Coulter Counter^{R} Modell FN

11 DEPTALLA, G. W., MÜNTER, W. u. NAUMANN, G., Vergleichende Untersuchungen über Schnellverfahren zur Erfassung einer signifikanten Bakteriurie. Deutsche Med. Wschr. 92: S. 2392 (1967)

12 FUCHS, T. u. GUTENSOHN, G., Leukozyturie bei Pyelonephritis. Deutsches Med. Journal 21: S. 66 (1970)

13 FUCHS, T., Diagnostik der Pyelonephritis. diagnostik 2: S. 221 (1969)

14 GEKLE, D. u. FISCHER, V., Kritische Aspekte zur Pyelonephritis im Kindesalter. Münchener Med. Wschr. 109: S. 1397 (1967)

15 GROSS, R. u. SCHÖLMERICH, P. (Herausgeber), Lehrbuch der Inneren Medizin. F. K. Schattauer Verlag Stuttgart New York, 5. Auflage 1977 S. 890

16 HIRSCH, H. A., Screening-Tests zur Erfassung von Bakteriurien. Deutsche Med. Wschr. 95: S. 1532 (1970)

17 HOHENFELLNER, R. u. ALTWEIN, J. E., Antibiotika in der Urologie. In: Antibiotika - ein Leitfaden für die Therapie in Praxis und Klinik, R. FREY (Herausgeber), Aesopus Verlag, Milano, München, Lugano, 2. Auflage 1974 S. 236

18 HOIGNE, R., BARTHOLOME-PATO, J. u. MÜLLER, U., Die Beurteilung des Behandlungserfolgs bei Harnweginfektionen auf Grund quantitativer Bestimmung von Bakteriurie und Leukocyturie. Schweizer Med. Wschr. 98: S. 1939 (1968)

19 HOUGHTON, B. J. u. PEARS, M. A., Cell excretion in normal urine. British Medical Journal 1957/I S. 622

20 HOUSTON, I. B., Pus cell and bacterial counts in the diagnosis of urinary tract infections in childhood. Archives of Disease in Childhood 38: S. 600 (1963)

21 HUSSELS, H., Eine einfache Modifikation zur genauen Bestimmung der Keimzahl bei der bakteriologischen Urinuntersuchung. Das medizinische Laboratorium 22: S. 1 (1969)

22 KASS, E. H., Chemotherapeutic and Antibiotic Drugs in the Management of Infections of the Urinary Tract. American Journal of Medicine 18: S. 764 (1955)

23 KASS, E. H., Bacteriuria and the Diagnosis of the Urinary Tract Infections. Archives of Internal Medicine 100: S. 709 (1957)

24 KASS, E. H., Pyelonephritis and Bacteriuria. Anuals of Internal Medicine 56: S. 46 (1962)

25 KASS, E. H., Bacteriuria of pregnancy, prematurity and pyelonephritis. IIIrd International Congress of Chemotherapy Stuttgart 1963, Proceedings Georg Thieme Verlag. Zitiert bei Naumann (32)

26 KUNZ, H. H., SIEBERTH, H. G. u. a., Zur Bedeutung der Blasenpunktion für den sicheren Nachweis einer Bakteriurie. Deutsche Med. Wschr. 100: S. 2252 (1975)

27 LAMPEN, H., Wege zur Frühdiagnose der chronischen Pyelonephritis. Die medizinische Welt 1964 S. 904

28 LINZENMEIER, G., Probleme der bakteriologischen Urindiagnostik. Deutsche Med. Wschr. 90: S. 1143 (1965)

29 LITTLE, P. J., Diagnostic criteria of pyelonephritis. Journal of Clinical Pathology 18: S. 556 (1965)

30 MAYR, K., Erfahrungen mit dem Coulterschen Blutkörperchenzählgerät. Wiener klinische Wschr. 77: S. 702 (1965)

31 METZ, H., Zur Bakteriologie, Therapie und Pathogenese nicht gonorrhoischer Harnwegsinfektionen. Münchener Med. Wschr. 105: S. 457 (1963)

32 NAUMANN, P., Bakteriologische Aspekte der Pyelonephritis. Deutsches Med. Journal 15: S. 434 (1964)

33 NAUMANN, P. u. HUBMANN, R., Sinn und Unsinn der Antibioticabehandlung. Der Urologe A 1972 S. 8

34 PRYLES, C. V. u. ELIOT, C. R., Pyuria and Bacteriuria in Infants and Children. American Journal of Diseases of Children 110: S. 628 (1965)

35 RICHAR, W. J. u. BREAKELL, E. S., Evaluation of an electronic particle counter for the counting of white blood cells. American Journal of Clinical Pathology 31: S. 384 (1959)

36 RINSCHE, K., Die Bedeutung der Keimzahlbestimmung in der Urologie. Der Urologe A 1972 S. 12

37 ROEMER, G. B. u. MAI, K., Über das Vorkommen spezifischer Antikörper bei Harnwegsinfektionen durch Enterokokken. Zeitschrift für Hygiene 147: S. 246 (1961). Zitiert bei Naumann (32)

38 SANDMANN, F., Symptomarme Harnwegserkrankungen. chirurgische praxis 21: S. 73 (1976)

39 STANSFELD, J. M., The measurement and meaning of pyuria. Archives of Disease in Childhood 37: S. 257 (1962)

40 VELA NAVARRETE, R., Neue Methoden zur Diagnose der Bakteriurie. Münchener Med. Wschr. 111: S. 720 (1969)

Bei Herrn Prof. Dr. E. Fritze bedanke ich mich für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit sowie für viele Anregungen und Hinweise, die zu ihrem Gelingen beigetragen haben.

Lebenslauf

Klaus-Werner Müller

11. 9. 1953	in Bochum geboren Vater : Werner Müller Mutter: Ruth Müller, geb. Beck
1960 - 1964	Schüler der katholischen Volksschule an der Friederikastraße in Bochum
1964 - 1972	Schüler der Graf-Engelbert-Schule, eines neusprachlichen und mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasiums
29. 5. 1972	Abitur
WS 1972/73 bis SS 1978	Studium der Medizin an der Ruhr-Universität Bochum und Universität Essen
18. 10. 1978	Staatsexamen
30. 11. 1978	Approbation
1. 11. 1978	Beginn der ärztlichen Tätigkeit als Assistenzarzt in der Klinik Martinusquelle, Bad Lippspringe

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353